

⑩ 日本国特許庁 (JP) ⑪ 特許出願公開
 ⑫ 公開特許公報 (A) 平2-128153

⑬ Int. Cl. 5
 G 01 N 27/327

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)5月16日

7363-2G 7363-2G G 01 N 27/30 353 T
 J*

審査請求 未請求 請求項の数 8 (全12頁)

⑮ 発明の名称 水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の測定のためのセンサー

⑯ 特願 昭63-252837

⑰ 出願 昭63(1988)10月6日

⑱ 発明者 カーター・アンダーソン アメリカ合衆国ミネソタ州55417ブルックリンパーク・シ

ツクスティセブンスウェイ 6057

⑲ 発明者 デビッド・シー・ソジン アメリカ合衆国ミネソタ州55408ミネアポリス・アービングアベニューサウス 2654

⑳ 発明者 ウィリアム・ブイ・フアウラー アメリカ合衆国ミネソタ州55417ミネアポリス・ノコミスアベニューサウス 4925

㉑ 出願人 アーデン・メディカル・システムズ・イン コーポレーテッド アメリカ合衆国ミネソタ州55113ローズビル・ロングレイ

クロード 2675

㉒ 代理人 弁理士 小田島 平吉

最終頁に続く

明細書

1. 発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の測定のためのセンサー

2. 特許請求の範囲

1. キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、脱水素に対して感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NADHおよびNADHから成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

2. キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、水素化に対して感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、

検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NADHおよびNADHから成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

3. キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、その溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NADHおよびNADHから成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

4. 脱水素に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、

特開平2-128153(2)

電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD⁺およびNADP⁺から成る群のコファクター、パーカルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

5、水素化に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NADHおよびNADPHから成る群のコファクター、パーカルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素からなる電極コーティング組成物。

6、脱水素に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD⁺およびNADP⁺より成る群のコファクター、パーカルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

7、NAD⁺、パーカルオロスルホン酸ポリマー、メチレンブルーおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなる電極コーティング組成物。

8、NAD⁺、パーカルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルビロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドロゲナーゼ酵素からなるコーティングをその上に有する導電性本体からなる感知装置のための電極。

3、発明の詳細な説明

本発明は、医学的装置に関する。とくに、本発明は、水溶液、とくに体液、例えば、全血液、血漿および尿の中の酵素脱水素可能なまたは水素化可能な物質、例えば、グルコースまたはビルビン酸のレベルを、アンペア的に、測定するために使用する、臨床化学的分析装置に関する。

患者の血液または他の体液中のある種の化学的物質および/または生物学的物質のレベルを正確に、信頼性をもって、かつ迅速な情報を得ることが、現代の診断医学において、要求されている。

最も普通の決定の1つは、血液または尿中のグルコースの決定であり、そして、便宜上、以後の説明はグルコースのレベルの決定に集中される。

一回使用の感知装置を利用するこのような分析のために有用なシステムは、1987年3月31日付けの米国特許第4,654,127号(リチャード W.ペイカーおよびロウジャー L. フィンク) (その開示を引用によってここに加え

る)に記載されている。

米国特許第4,654,127号の装置において、体液、例えば、血液または尿の試料を多室の受器の1つの室に入れ、一方目盛り定め剤の液体を受器の他の室に入れる。次いで、センサーの電極へ、まず、目盛り定め剤の液体を流れさせ、次いで試験試料を流れさせる。液体とセンサー電極との順次接触は電流を発生させ、この電流を測定しつつ関係づけて、試験液体中の特定の物質の濃度に関する所望の情報を得る。次いで、キャリヤー(carrier)を廻収する。

米国特許第4,654,127号のシステムにおけるセンサー電極の各々は、ポリマーおよび電気的活性種を含むコーティングを有するものとして開示されており、ここでポリマーはセンサーの活性区域にわたって膜をつくり、そしてシステムの導電性表面に近くに電気的活性種を固定化する機能を有する。

また、溶液中のそのレベルを測定すべきある物質、例えば、グルコースは、適当なデヒドロゲナ

一ゼニコチニンアミドアデニンジヌクレオイド)、および仲介物質を含む反応の機構による。このようなシステムの一般的な化学は、次の論文において論じられている: ロ・ゴルトン (L. Gorton)、「ニコチニンアミド補酵素の電気放電的酸化のための化学的変性した電極 (Chemical Modified of Nicotinamide Coenzymes)」、J. Chem. Soc. Faraday Trans. 1., 1986, 82, 1245-1258 (その開示を引用によってここに加える)。ロ・ゴルトン (L. Gorton) の論文における反応機構は、次によって表わされる:



ここで SH₁ および S は、その濃度を決定すべき種の、それぞれ、水素化および脱水素された形態を表わし、そして Mox および Mred は、それぞれ、仲介物質の酸化されたおよび還元された形態を表わす。

グルコースのレベルの電気化学的検出のための最も普通のアッセイの系は、グルコースオキシダーゼの存在下に分子状酸素によりグルコースを酸化して、グルコール酸および過酸化水素を生成することを含む。電気化学的検出は、酸素の消耗に、あるいは過酸化物の発生に關係づけることができる。

いずれの場合においても、この機構の主要な欠点は酸素の利用可能性における制限である。この制限は、試験液体において直面することが期待される濃度の所望の直線の範囲のために、適切な酸素の供給を保証するために、予備希釈を必要とする。

る。さらに、全血液の測定は、ヘモグロビンの酸素飽和能力のために、精確に測定することが非常に困難である。

あるいは、先行技術は、化学反応において酵素の代わりに仲介物質を使用し、これはセンサー電極上の膜またはコーティング中に挿入されて、予備希釈の必要性を排除した。ベンゾキノンを仲介物質として選択する場合、グルコースとベンゾキノンとのグルコースオキシダーゼの存在下の反応はグルコール酸およびハイドロキノンを生成する。

この別法は、所望の(および測定する)反応がグルコースと分子状酸素との前述の反応と競争するという欠点を有する。こうして、異なる酸素濃度をもつ試料は、同一のグルコース濃度において異なる応答を生成することがある。この妨害は全血液の測定において最も困窮である。

本発明の1つの面によれば、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、脱水素に対して感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在

下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD⁺、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置が提供される。

本発明の他の面によれば、脱水素に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD⁺、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法が提供される。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水

溶性樹脂のポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン(PVP)および水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックス接着剤を含有する。

ある脱水素反応について、この分野において知られているように、コファクター(cofactor)として、NAD⁺の代わりにNADP⁺(ニコチンアミドアデニジヌクレオチドホスフェート)を使用することが好ましいことがある。

本発明は、また、脱水素よりむしろ、水素化に感受性である化学的種に、デヒドロゲナーゼ酵素、例えば、ビルビン酸の存在下の適用することができる。このような用途において、コファクターの水素化された形態、すなわち、NADHまたはNADPHをNAD⁺またはNADP⁺の代わりにコーティング組成物において使用する。

本発明の他の実施形態において、本発明は体液または他の水溶液中のデヒドロゲナーゼ酵素のレベルを検出するために使用できる。このような場合において、コーティング組成物はデヒドロゲナ

十分に長い期間の間その一体性を保持する。アニオン性バーフルオロスルホン酸ポリマーはカチオン性メチレンブルーを膜に結合すると信じられる。

本発明の感知電極は測定アノードであり、好ましくは單一のカソードおよび地面上に電子を伝達する並列の2つの別々のアノードの1つである。他方のアノードは、「バックグラウンドアノード」と呼び、カソードおよび地面上に面して一定の電圧を維持する。こうして、この分野において知られているように、試験溶液に暴露されることによって起こる測定アノードにおける状態およびその上の電子の発生の変化は、アノードおよびカソードの間に印加する電圧に無視できる影響のみを有する。

測定アノードおよびバックグラウンドアノードの両者は、好ましくはグラファイトから作る。カソードは、好ましくは、銀から作り、そして酸化銀のコーティングを有する。前述のコーティング組成物でコーティングされるのは測定電極のみである。

一セ酵素を含有せず、むしろ試験すべき体液のデヒドロゲナーゼ酵素の含量によって消費されることが期待される量を越える量において、測定すべき酵素による水素化または脱水素に対して感受性の種を含有する。

本発明のシステムにおいて、グルコース含量を、例えば、アンペアに翻訳するために必要な成分のすべては、グルコース含量の期待する直線の範囲のために適切な供給で、コーティング中に配合される。こうして、試料の予備査定は不要である。

さらに、酵素は測定において含まれず、そして酵素の濃度はそれに影響を及ぼさない。

コーティング中のメチレンブルーの存在は、低い印加電圧における検出および測定を可能とし、こうしてより高い電位において酸化に感受性でありうる種からの妨害を排除する。

本発明のコーティングされた電極は、急速に応答し、2分以下の精確な測定を可能とする。

最後に、膜の組成物は水溶液中に可溶性でなく、そして溶解性ある測定の実施を可能とするために

バーフルオロスルホン酸ポリマーが唯一の樹脂成分であるコーティング組成物において、コーティングは目盛り定め剤(calibrant)の液体および試験液体のそれを通過する急速な移送のためには密でありすぎる。こうして、このような組成物はより速い試験において使用することができるが、急速な読みを提供することを意図するシステムにおいては好ましくない。

コーティング組成物が、また、水溶性樹脂のポリマーを含む好ましい実施形態において、コーティング組成物は目盛り定め剤および試験液体のそれを通す急速な移送を可能とする。

好ましい組成物は、また、乾燥のとき架橋した構造体を形成する、水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックスを含有し、これによって改良された一体性を組成物に与える。

第1図は、本発明の感知装置10の全体の構成を示す。この装置は、強韧な、非導電性プラスチック材料、例えば、アクリロニトリル-ブタジエン-ステレン-コポリマー(ABS)から作られた、

両性のカードの形態キャリヤー 11、およびその一端をカバーする板 12 を含む。板 12 は、一般に、透明なプラスチック材料から作られるが、透明性は必須ではない。

キャリヤーの一端に、板より下に、毛管通路 13 が存在し、これは S 字形であり、そしてキャリヤー 11 の上表面と実質的に平坦な S 字形カバーの下表面との間の狭い空間に上って定められる。毛管通路 13 は入口端 14 と出口端 16 との間を走行する。入口端に、「プラウ (plow) と呼ぶ、S 字形の毛管通路のカバーの上昇した部分 17 が存在する。そのプラウの機能は、後述するように、目盛り定め剤および試験溶液を保持するはくに孔を開け、そしてこれらの溶液を、連続的に、毛管通路の入口 14 に入らせることである。バックグラウンドアノード 18、カソード 19 および測定アノード 21 は、毛管通路内に、その入口に隣接して、存在し、そして各々は、測定アノード 21 について第 2 図に示すように、「モート (mote)」33 によって取囲まれている。

3 に至る。キャリヤー 11 の両方の面における導電性トラック 34 は、測定アノードにおいて発生した電子を感知装置内の接点へ導き、そして実質的に所望の読みを提供するマイクロプロセッサへ導く。

バックグラウンドアノード 18 は、コーティングまたは膜をもたない以外、測定アノード 21 に類似する。カソード 19 はキャリヤー 11 を通して延びる銀のプラグであり、その上表面は塩化銀の薄い層でコーティングされている。

コーティング 32 は、前述のように、少なくともグルコースデヒドロゲナーゼ (グルコースが測定すべき化学種であるとき)、メチレンブルー [3,7-ビス (ジメチルアミノ) フェノチアジン-5-イウムクロライド] およびパーカルオロスルホン酸ポリマーからなる。

使用できる適当なパーカルオロスルホン酸ポリマーは、少なくとも約 900 の等価重量 (equivalent weight) を有するものである。少なくとも約 1100 の等価重量は好ましい。

円筒形ガイドスリーブ 22 は、入口 17 より上に板 18 の 1 つの角に取り付けられている。多室シリンダー 23 はスリーブ 22 内に回転するよう取り付けられており、そして内部の壁 24 を有し、この壁はシリンダーを、目盛り定め剤液体を含有する目盛り定め剤室 26 と血液または他の液体の試料を受取る試料室 27 とに分離する。目盛り定め剤液体は室 26 内に工場で密閉され、そしてセンサーによって測定すべき、既知濃度のグルコースを含有する。キャップ 28 は、ウェブ 29 によってシリンダー 23 へ接続されており、そして試料室 27 が液体試料を受取った後、シリンダー 23 の上端より上に配置される。

測定アノード 21 は、第 2 図に断面図で示されており、グラファイトプラグ 31、好ましくはグラファイトプラグから切ったシリンダーからなり、このプラグはカソード 11 のプラスチック材料中に孔を通して延びている。膜またはコーティング 32 は、プラグ 31 の 1 つの表面をカバーし、そしてそこから短い距離でプラグを取囲むモート 3

バーフルオロスルホン酸溶液は、イー・アイ・デュポン社から商標ナフィオン (Nafion®) で商業的に販売されており、そして、また、マーティン (Martin) らの手順 [Anal. Chem., Vol. 54, 1639 (1982)] によって調製することができる。

好ましくは、コーティング組成物は、また、水溶性樹脂のポリマー、例えば、ポリビニルピロリドンを含有する。この材料の存在は、コーティングまたは膜を、試験溶液の透過性をよりよくし、そして読みをより速くする。

ポリビニルピロリドン (PVP) が水溶性ポリマーであるとき、それは、一般に、約 10,000 を越える、好ましくは約 300,000 を越える平均分子量を有する。

使用できる他の適当なポリマーは、ポリエチレンオキシド、ポリビニルアルコール、ヒドロキシエチルセルロース、アラビアゴムおよびアルギン酸などを包含する。

さらに、好ましいコーティング組成物は、また、

水性エマルジョン接着剤、例えば、ポリ酢酸ビニルラテックス接着剤を含有する。この物質は、決定酵母のとき架橋して硬化し、これによって追加の一体性を決定酵母したコーティングに付与し、コーティングが試験浴液で膨潤したときの崩壊を少なくすると思われる。

使用できる他の水性エマルジョン接着剤は、アクリレートおよびメタクリレートエステルのラテックスポリマーを包含する。

約1000の使い捨てキャリヤーのための測定アノードの調製に十分な、典型的なコーティング組成物は、約2000～約3500単位のグルコースデヒドロゲナーゼ（または50単位/mg活性に基いて約0.04～約0.07g）、約0.2～約0.5gのニコチンアミドアデニンジスクレオイド、約0.01～約0.03gのメチレンブルーおよび約1～約2mlのバーフルオロスルホン酸ポリマーを1.25重量%のポリマーを含有するメタノール中の溶液として含有する。

コーティング組成物を測定電極の上表面に適用

ン接着剤を含有する。

コーティングは、乾燥後、一般に、約2～約4ミル、好ましくは約3～約3.5ミルの厚さを有する。

特定の実施態様において、約1000の電極のためのコーティング組成物は、次の成分からなる：

- 1) グルコースデヒドロゲナーゼ、2235単位、
- 2) ニコチンアミドアデニンジスクレオイド、ナトリウム塩、0.298g、
- 3) メチレンブルー、0.175g、
- 4) ポリビニルビロリドン（水中1%）、1.300g、
- 5) ポリ酢酸ビニルラテックス（水中2.1%）、0.388g、
- 6) バーフルオロスルホン酸ポリマー（水中1.25%）、1.313ml。

コーティング組成物は、好ましくは、約500～約1000単位/mlのグルコースデヒドロゲナーゼ、約9～約15重量%のNAD⁺、約0.3

し、次いで乾燥させる。測定電極を取囲むモートは、電極のへりにおいて鋭い表面を形成し、これによって、表面張力により、コーティング組成物のための鋭い境界を形成し、その広がりを精確に電極の区域に限定する。

グラファイトは油性または疏水性の表面を有するが、驚くべきことには、水性コーティング組成物はそれによってはじかれないこと、およびコーティングは、乾燥後、それに接着性であることがわかった。

コーティングを乾燥すると、それは、典型的には、コーティングの1gにつき、約4000～約8000単位のグルコースデヒドロゲナーゼ（またはその約8～約16重量%）、約75～約87重量%のNAD⁺、約2～約6重量%のメチレンブルーおよび約2～約4重量%のバーフルオロスルホン酸ポリマーを含有する。さらに、コーティングは、0～約7重量%、好ましくは約2～約4重量%の水溶性ポリマー、および0～約5重量%、好ましくは約1～約3重量%の硬化したエマルジョ

ー約0.6重量%のバーフルオロスルホン酸ポリマー、約0.4～約0.9重量%のメチレンブルーおよび約0.1～約0.6重量%のポリ酢酸ビニルラテックスを含有する。組成物の残部は密媒、主として水である。

グルコースデヒドロゲナーゼ、NAD⁺およびメチレンブルーを、まず、水性ポリビニルビロリドン溶液中に攪拌しながら溶解する。次いで、ポリ酢酸ビニルラテックスを、完全に配合するまで攪拌しながら、添加する。組成物が攪拌されている間、バーフルオロスルホン酸ポリマー溶液を徐々添加する。1～2分にわたる、この成分のゆっくりした添加は、ポリマーをコーティング組成物内に微細に分散させるために必要である。

この段階におけるコーティング組成物の外観は、一般に、非常に暗い青であり、分散した微細な黒い粒子を含む。

操作における測定電極の性質を、第3図および第4図に示す。第3図は2種類の試験に関する。

それは、第1試験において、電極におけるアンペ

アを示し、電極が、まず、5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤溶液に暴露され、次いで(120秒後)2ミリモルのグルコースを含有するようにつくられた試験溶液に暴露されると、アンペアは変動する。第2試験は、同様であるが、試験溶液は20ミリモルのグルコースを含有するようにつくられる。

第3図の左の曲線を左から右に読むと明らかのように、電極は、最初、不規則な未知の電気的「ノイズ」の理由によって、少量の電流(約1ミリアンペア)を発生し、そして電流は、約60秒以内に、目盛り定め剤溶液が電極に到達するにつれて、3ミリアンペアに近くまで上昇する。

試験溶液が解放されると、約120秒後、混合作用によるアンペアの瞬間的なわずかの上昇が存在し、次いで、試験溶液が目盛り定め剤溶液を差し、そのグルコース含量を低下させるにつれて、アンペアは一定して低下する。

これと対照的に、右の曲線は、また、目盛り定め剤溶液が電極に到達するときの、最初の60秒

グルコースを含有しない目盛り定め剤(曲線AおよびB)について、および5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤(曲線CおよびD)について、印加した電位を変化させて、測定した電流の変動を示す。曲線AおよびCは、アノードのコーティングがメチレンブルーを含有しないシステムを表わす。曲線BおよびDは、コーティングが以後の特定の実施例に記載する量でメチレンブルーを含有するシステムを表わす。

理解できるように、曲線AおよびCの間において、曲線BおよびDの間におけるより、大きい差が存在し、そして曲線AおよびBにおける電流のレベル(グルコースに起因しない電流を示す)はより高い電圧において許容されないほどに高い。曲線も示すように、コーティング組成物中のメチレンブルーの存在は、その不存在において得ることができるものよりも、より大きい感度および精度を試験に与える。最適な結果は約0.2~約0.4ボルトの電位を付与したとき得られることを曲線が示している。

間のアンペアの増加を示す。これに引続いて、第2試験溶液が解放されると、120秒後、アンペアは大きく増加し、試験溶液が目盛り定め剤溶液中に配合され、それと置換されると、溶液のグルコースは上昇しはじめる。約180秒の後、約10ミリアンペアのピークアンペアが得られ、この時、この装置のよってアンペアが読み取られ、そして目盛り定め剤溶液についてのアンペアの読みと関係づけられて、試験溶液の所望の読みが得られる。

前述の特定のコーティング組成物を使用して作られた、第3図の試験において使用した特定のシステムについて、試験溶液のアンペアの読みについての最適な時間は、目盛り定め剤溶液の解放後約180秒および試験溶液の解放後約60秒である。他のコーティング組成物を使用すると、最適な読み取り時間は目盛り定め剤溶液の解放後2分程度に短い時間から20分またはそれ以上までに変化するであろう。

第4図は、4つの別々の曲線を含有し、そして

第5図は、極端な精度が読みの速さを犠牲にして望まれると、有用である本発明の他の実施態様を示す。第5図において、第2図に類似する要素は同様な参照数字を有し、そして理解できるように、この実施態様における反応成分含有コーティング32グラファイトアノードおよび適用した試験溶液と直接接触しない。むしろ、反応成分含有コーティングはバーフルオロスルホン酸ポリマーの2層41および42の間に挟まれる。本性質中の層に対するバーフルオロスルホン酸ポリマー層の抵抗は、試験流体のアノードへの浸透を遅くし、そしてコーティングのアセンブリーに一体性を付与するので、コーティングのアセンブリーは要求するより長い投射期間のために耐久性を保持する。

第5図の実施態様は、例えば、極端な精度を保証しつつ読みの精度が二次的な重要性をもつ決定、例えば、血液中のエチルアルコールのレベルの決定にとくに有用である。

以下の表は、電流を発生するためにグルコース

オキシダーゼ反応を利用する、商業的に入手可能なグルコースのアンペア測定システムと比較した、本発明のシステムの性能の特性を提供する。

表

	先行技術の システム	本発明の システム
精度		
血漿	3 - 8 %	3 - 5 %
全血液	6 - 10 %	3 - 5 %
全血液を使用する		
最低の検出レベル	3 ミリモル/ℓ	1 ミリモル 以下/ℓ
最高の検出レベル	20 ミリモル/ℓ	30 - 35 ミリモル /ℓ
酵素の妨害	大きい、酵素 の抑制信号	なし
全血液を使用する		
温度の影響	大きい	酵素のシ ステムのわず

んこの読みがなされると(一般に約120秒後)、キャップ28およびシリンダー23をもう一度この時は180°だけ試料の試験位置へ回し、ここで室27の底における箔のシールをプラウ17によって孔開けし、そして試験流体は毛管通路13の入口14の中に流入する。

試験流体は、この時点において、電極18、19および21を含有する毛管通路3の部分において目盛り定め剤流体を置換する。毛管通路中の試験流体の流れは、また、液体ヘッドの減少および毛管作用のために、停止し、そして最後の測定は分析装置によってなされる。センサーの読みに基づいて、目盛り定め剤の液体が測定電極21と接地したときおよび試験液体が測定アノード21と接触したとき、分析装置は試料流体中のグルコースの濃度を測定する。

本発明は、主として、グルコースレベルの決定に関する発明した。しかしながら、本発明は、適当なデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に脱水素されるまたは水素化される他の化学種、例えば、

精確さ

血漿	1 ミリモル/ℓ	1 ミリモル以 下/ℓ
----	----------	----------------

全血液	± 1.5 ミリ モル/ℓ	1 ミリモル以 下/ℓ
-----	------------------	----------------

操作において、まず、体の試料を室27に挿入し、次いで蓋をキャップ28で密閉し、そして感知装置における適当なスロット中にこのカードアセンブリーを挿入する。次いで、キャップ28およびシリンダー23を開始位置から90°だけ回し、これによってプラウ17による孔開けによって室26の底において箔のシールを破り、そして室26から目盛り定め剤の液体を毛管通路13の中に流入させ、ここで目盛り定め剤の液体は3つのすべての電極18、19および21と接触する。目盛り定め剤の液体の流れが、液体ヘッドの減少および表面張力のために、停止したとき、目盛り定め剤の試験の読みを分析装置によって目盛り定め剤のグルコースレベルに応答して行う。いった

エタノール、乳酸塩、ビルベート、コレステロール、ヌレエート、グリセロールおよびグルタメート、ビルビン酸塩、コレステロール、りんご酸塩、グリセロールおよびグルタミン酸塩などを検出するため使用できる。

本発明を好ましい実施態様を参照して説明したが、本発明の教示および範囲を逸脱しないで、種々の変化および変更が可能である。

本発明の主な態様および特徴は、次の通りである。

1. キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、脱水素に対して感受性の選択した化学的種のレベルをその溶渡中においてそのためのデヒドロゲナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD⁺およびNADH⁻から成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティン

グされていることを特徴とする前記感知装置。

2、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、水素化に対して感受性の選択した化学的種のレベルをその溶液中においてそのためのデヒドログナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NADHおよびNADHから成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

3、キャリヤーおよび少なくとも2つの電極からなり、その溶液中においてそのためのデヒドログナーゼ酵素の存在下に、アンペア測定的に、検出できる臨床化学的分析装置と一緒に使用するための1回使用の感知装置において、前記電極の1つは、メチレンブルー、NAD⁺およびNADP⁺から成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水

約2～約4重量%のバーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約3～約6重量%のメチレンブルーを含有する上記第4項記載の感知装置。

11、前記コーティングは、さらに、約2～約4重量%のポリビニルビロイドンおよび約1～約3重量%の硬化したポリ酢酸ビニルを含有する上記第10項記載の感知装置。

12、脱水素に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドログナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NADHおよびNADP⁺から成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

素のための酵素からなる組成物でコーティングされていることを特徴とする前記感知装置。

4、前記酵素はグルコースデヒドログナーゼである上記第1項記載の感知装置。

5、前記コーティング組成物は水溶性樹脂のポリマーを含有する上記第1、2および3項のいずれかに記載の感知装置。

6、前記水溶性樹脂のポリマーはポリビニルビロイドンからなる上記第5項記載の感知装置。

7、前記コーティング組成物は水性エマルジョン接着剤を含有する上記第1、2および3項のいずれかに記載の感知装置。

8、前記接着剤はポリ酢酸ビニルラテックスからなる上記第7項記載の感知装置。

9、前記コーティングは約2～約4ミルの厚さを有する上記第1、2および3項のいずれかに記載の感知装置。

10、前記コーティングは、約4000～約8000単位/gのグルコースデヒドログナーゼを含有し、そして約75～約87重量%のNAD⁺、

13、水素化に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドログナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流のアンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NADHおよびNADP⁺から成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

14、脱水素に対して感受性の選択した化学的種の濃度を、水溶液中において、そのためのデヒドログナーゼ酵素の存在下に決定する方法であって、電極上のコーティングの外表面を前記溶液でぬらし、前記溶液を前記コーティングを通過させて前記電極と接触させ、そして前記電極と他の電極との間の電流を生成させ、その後、前記電流の

アンペアを測定することからなり、前記コーティングはメチレンブルー、NAD⁺およびNADP⁺より成る群のコファクター、バーフルオロスルホン酸ポリマーおよび前記選択した化学的種の脱水素のための酵素からなることを特徴とする前記方法。

15、前記外表面は、前記選択した化学的種の前記溶液でぬらす前に、日盛り定め剤溶液でぬらす上記第12、13および14項のいずれかに記載の方法。

16、前記選択した化学的種はグルコースであり、そして前記デヒドログナーゼ酵素はグルコースデヒドログナーゼである上記第12項記載の方法。

17、前記選択した化学的種はアルコールであり、そして前記デヒドログナーゼ酵素はアルコールデヒドログナーゼである上記第12項記載の方法。

18、前記コーティングは、さらに、水溶性樹脂のポリマーおよび硬化したエマルジョン接着剤

24、前記酵素はグルコースデヒドログナーゼである上記第23項記載の組成物。

25、前記コーティング組成物は、さらに、ポリビニルビロリドンおよびポリ酢酸ビニルラテックスを含有する上記第23項記載の組成物。

26、前記コーティングは、約500～約1000単位/m²のグルコースデヒドログナーゼ、約9～約15重量%のNAD⁺、約0.3～約0.6重量%のバーフルオロスルホン酸ポリマー、約0.4～約0.9重量%のメチレンブルーおよび約0.1～約0.6重量%のポリ酢酸ビニルラテックスを含有する上記第24項記載の組成物。

27、NAD⁺、バーフルオロスルホン酸ポリマー、ポリビニルビロリドン、硬化したポリ酢酸ビニルラテックスおよびデヒドログナーゼ酵素からなるコーティングをその上に有する導電性本体からなる感知装置のための電極。

28、前記導電性本体はグラファイトである上記第27項記載の電極。

29、前記コーティングは、約7.5～約8.7重

を含有する上記第12、13および14項のいずれかに記載の方法。

19、前記水溶性樹脂のポリマーはポリビニルビロリドンであり、そして前記硬化したエマルジョン接着剤は硬化したポリ酢酸ビニルである上記第18項記載の方法。

20、前記コーティングは、約4000～約8000単位/m²のグルコースデヒドログナーゼ、約7.5～約8.7重量%のNAD⁺、約3～約6重量%のバーフルオロスルホン酸ポリマーおよび約2～約4重量%のメチレンブルーを含有する上記第19項記載の方法。

21、前記アンペアは付加された電位において測定する上記第12、13および14項のいずれかに記載の方法。

22、前記付加された電位は約0.2～約0.4ボルトである上記第21項記載の方法。

23、NAD⁺、バーフルオロスルホン酸ポリマー、メチレンブルーおよびデヒドログナーゼ酵素からなる電極コーティング組成物。

量%のNAD⁺、約2～約4重量%のバーフルオロスルホン酸ポリマー、約1～約3重量%の硬化したポリ酢酸ビニルラテックス、およびコーティングの1gにつき約4000～約8000単位のグルコースデヒドログナーゼからなる上記第27項記載の電極。

30、前記コーティングは單一の層のコーティングである上記第27項記載の電極。

31、前記コーティングは多層コーティングからなり、ここで上記第27項記載の成分を含有する層がバーフルオロスルホン酸ポリマーから本質的に成る2層の間に挟まれている上記第27項記載の電極。

4、図面の簡単な説明

第1図は、本発明のシステムにおいてキャリヤーの分解斜視図である。

第2図は、本発明の測定電極の拡大断面図である。

第3図は、2つの測定における時間に対する電流の変動を示すグラフであり、ここで測定期量のグ

ルコースを含有する試験浴液は5ミリモルのグルコースを含有する目盛り定め剤である。第1測定において、試験浴液は2ミリモルのグルコースを含有する。

第4図は、グルコースを含有するか、あるいは含有しない目盛り定め剤について、およびメチレンブルーを含有するか、あるいは含有しない目盛り定め剤について、印加した電圧に対する電流の変動を示すグラフである。

第5図は、本発明の測定電極の他の実施態様の上部の拡大部分断面図である。

特許出願人 アーデン・メディカル・システムズ・インコーポレーテッド

代理人弁理士 小田島 平古

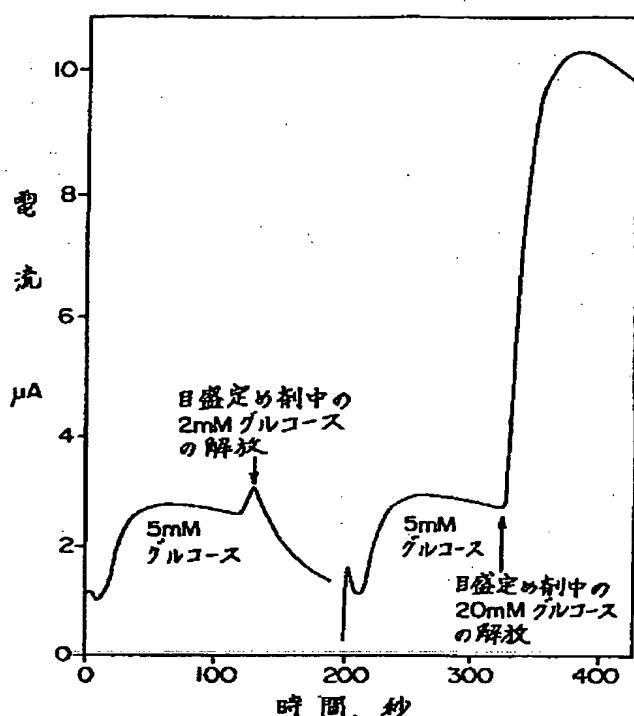


FIG. 3

FIG. 1

図面の序号(内容に変更なし)

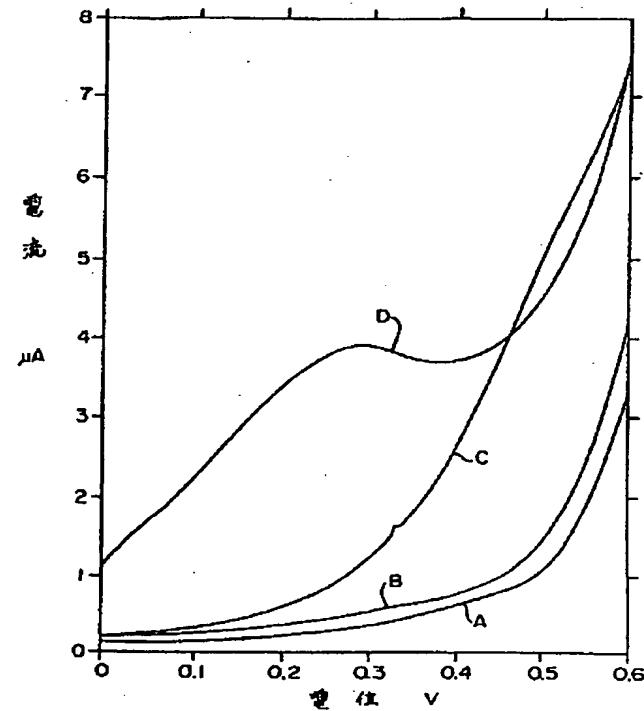
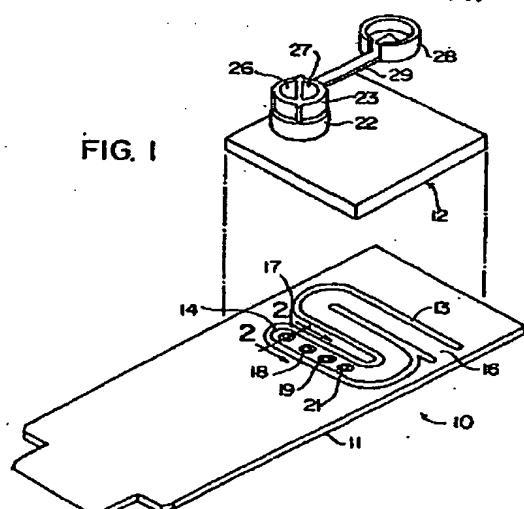


FIG. 4

FIG. 2

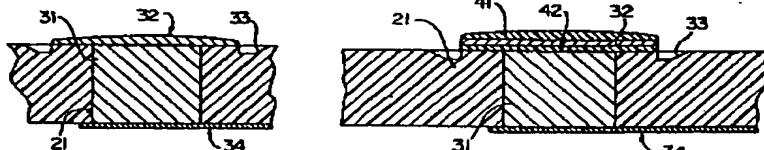


FIG. 5

第1頁の続き

⑥Int. Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号
II A 61 B 5/00	N	7916-4C
5/14	310	7831-4C
C 12 Q 1/00	B	6807-4B
1/32		6807-4B

手続補正書(方式)

平成1年3月7日

特許庁長官 吉田文毅殿

1. 事件の表示

昭和63年特許願第252837号

2. 発明の名称

水溶液中の酵素脱水素可能な化学的種の測定のための
センサー

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

名 称 アーデン・メディカル・システムズ・
インコーポレーテッド

4. 代理人 〒107

住 所 東京都港区赤坂1丁目9番15号

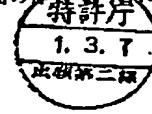
日本自動車会館

氏 名 (6078)弁理士 小田島平吉

電 話 585-2256



5. 補正命令の日付 平成1年1月31日(発送日)

6. 補正の対象 願書の特許出願人の名、委任状及び
その訳文並びに図面7. 補正の内容 別紙のとおり
図面の記載(内容に変更なし)

特許庁

1. 3. 7

出願第三類